

DOSAGE
DE
L'HEXAMÉTHYLÈNETÉTAMINE

DANS LE SANG " IN VITRO " ET " IN VIVO "

Étude de sa décomposition dans l'organisme

THÈSE

POUR

l'Obtention du Diplôme de Docteur de l'Université de Nancy

(MENTION PHARMACIE)

Présentée et soutenue le Mercredi 11 Juillet 1923

PAR

A. AUDILLE

PHARMACIEN-MAJOR DES TROUPES COLONIALES

LICENCIÉ EN DROIT

Né le 14 Mars 1885, au Havre (Seine-Inférieure)

Examineurs de la Thèse	{	MM. FAVREL, <i>Président.</i>
		DOURIS.....
		PASTUREAU { <i>Juges.</i>

DOSAGE
DE
L'HEXAMÉTHYLÈNETÉTRAMINE

DANS LE SANG " IN VITRO " ET " IN VIVO "

Étude de sa décomposition dans l'organisme

THÈSE

POUR

l'Obtention du Diplôme de Docteur de l'Université de Nancy
(MENTION PHARMACIE)

Présentée et soutenue le Mercredi 11 Juillet 1923

PAR

A. AUDILLE

PHARMACIEN-MAJOR DES TROUPES COLONIALES

LICENCIÉ EN DROIT

Né le 14 Mars 1885, au Havre (Seine-Inférieure)



Examineurs de la Thèse.....

{ MM. FAVREL, *Président.*
DOURIS..... } *Juges.*
PASTUREAU }

Assesseur : M PASTUREAU, ✱, 🌿.

Professeurs :

MM. FAVREL, ✱, I	Chimie organique.
GRÉLOT, ✱, I	Pharmacie galénique.
BRUNTZ, ✱, I	Matière médicale.
DOUHS, ✱, déc. étrangère.	Toxicologie et Analyse chimique.
PASTUREAU, ✱	Pharmacie chimique.
SEYOT, ✱	Histoire naturelle.
LASSEUR, ✱	Bactériologie.

Agrégé libre :

M. GIRARDET, I Chimie et Toxicologie.

Chargés de cours :

MM. FAVREL, ✱, I 	Chimie minérale et Minéralogie.
GRÉLOT, ✱, I  	Hydrologie.
BRUNTZ, ✱, I  	Zoologie.
DOURIS,                            	

Chefs de travaux :

MM. CORDEBARD,  	Toxicologie, Chimie, Analyse chimique.
PILLOT, I  , chargé des travaux . . .	Physique.
MANGENOT . . .	Micrographie.
VERNIER, I 	Microbiologie et Parasitologie.
GILLOT,  	Pharmacie.

Secrétariat :

MM. BERTRAND, I	Secrétaire.
F. LAMBERT DES CILLEULS, *, 卐, I	Secrétaire honoraire.
ROVEL, I	Secrétaire en disponibilité.

La Faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend ni les approuver ni les imputer.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR FAVREL

A MONSIEUR LE PROFESSEUR PASTUREAU

A MONSIEUR LE PROFESSEUR DOURIS

*En témoignage de
respectueuse et profonde reconnaissance*



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Introduction

Parmi les produits chimiques employés en thérapeutique, l'hexaméthylènetétramine ou uroformine en est un, connu depuis de longues années, qui après avoir joui d'une vogue rapide, possède encore à l'heure actuelle une grande réputation.

D'abord, et plus généralement administrée par voie buccale, puis hypodermique, on a songé, depuis 1908 (1), à l'utiliser par voie intra-veineuse, pensant, à juste titre, favoriser ainsi sa diffusion dans toutes les humeurs de l'organisme. Ces injections, très bien supportées et non douloureuses pour le malade, permettaient d'instituer une thérapeutique efficace et non dangereuse dans certaines infections généralisées.

Car, tout en étant un diurétique de valeur moyenne, l'uroformine possède avant tout la réputation d'un antiseptique (2).

Mais si sa valeur thérapeutique n'est pas contestée (3), son action pharmacologique est moins connue et plus discutée.

Lorsque l'uroformine est administrée par voie buccale, ce que nous savons de ses propriétés chimiques permet d'expliquer sa décomposition, soit par l'acidité du suc gastrique, soit par la légère acidité de l'urine normale à 37° (VINDEVOGEL) (4) comme le vérifie d'ailleurs la présence de formol dans les uri-

(1) GROSDIDIER. — Thèse de Nancy 1919 : *Les injections intra-veineuses d'urotropine dans les pleurésies séro-fibrineuses*.

(2) H. P. ACHARD — Notes sur l'emploi en chirurgie générale des injections intra-veineuses d'urotropine (*Progrès médical*, 16 novembre 1918).

(3) DESESQUELLE. — *Bulletin médical*, 20 novembre 1920.

(4) VINDEVOGEL. — *De l'urotropine* (Soc. Roy. des Sc. Med. et Nat. de Brux. Bull. 1898, LVI; Bull. 1902, fasc. 2, XI).

nes. Mais lorsque l'on injecte de l'uroformine directement dans la circulation, comment expliquer cette décomposition dans le sang, milieu alcalin ? Certains auteurs, comme nous le verrons plus loin, ont cru que le milieu sanguin était à lui seul capable de provoquer la décomposition de l'uroformine à 37°. Or, jusqu'à maintenant, ainsi que l'ont publié LOEPER et GROSDIDIER (1), personne n'a pu mettre en évidence le formol dans le sang d'individus ayant reçu de l'uroformine dans les veines. Et si cette décomposition n'a pas lieu, l'action antiseptique de l'uroformine persiste-t-elle ?

Nous nous sommes proposé, dans cette thèse, de répondre à ces questions par une expérimentation minutieuse sur l'animal, et nous avons divisé notre travail en deux parties :

1° Nous avons recherché quelles étaient les méthodes de choix qui permettent de suivre la transformation de l'uroformine dans l'organisme.

2° L'uroformine se décompose-t-elle en ses éléments lorsqu'elle est au contact du sang, et dans quelle mesure ?

Nous consacrerons un court chapitre à l'histoire de l'uroformine, puis nous exposerons les procédés de recherches que nous avons utilisés. Enfin, nous transcrirons le résultat de nos expériences et essaierons de tirer des conclusions.

Avant de terminer cette introduction, nous tenons à remercier P. GÉRARD (2), qui a bien voulu nous guider dans le choix du sujet et grâce à qui nous avons pu nous procurer tous les appareils nécessaires à cette expérimentation.

(1) LOEPER et GROSDIDIER. — Injections intra-veineuses d'urotropine dans quelques infections (*Progrès médical*, 1918, page 297 et 427).

— Injections intra-veineuses d'urotropine dans le traitement de la grippe (*Presse méd.*, décembre 1918).

— Injections d'urotropine dans les pleurésies sero-fibrineuses (*Presse méd.*, décembre 1918).

(2) Docteur ès-sciences, ancien chef du laboratoire de thérapeutique à la Faculté de Médecine de Paris.

Historique

Peu de médicaments possèdent un historique aussi connu que celui de l'uroformine. Les polémiques auxquelles donna lieu son introduction dans la pharmacopée lui ont fait une renommée classique que nous résumerons brièvement.

L'hexaméthylènetétramine fut découverte par un chimiste polonais BOUTLEROW (1) en 1860, en faisant agir du gaz ammoniac sur le trioxyméthylène. Ce n'est qu'en 1892 que TRILLAT (2), résumant ses travaux sur les propriétés antiseptiques du formol, attira l'attention sur la propriété que possède ce corps de régénérer l'aldéhyde formique sous l'influence des acides, et pour lequel il proposait alors le nom de formine.

En 1894, BARDET (3) étudiait ses effets sur l'organisme et concluait après son expérimentation, à la non toxicité du produit, et à son efficacité dans le traitement de la goutte.

C'est après ces publications que les Allemands s'emparèrent de la découverte et qu'ils poursuivirent avec méthode la recherche et l'expérimentation. Si bien que « cet enfant né en France, prospéra à l'étranger », comme le dit justement M. TIFFENEAU, et qu'il nous revint baptisé sous le nom d'urotropine, marque déposée, qu'il a conservé depuis.

(1) BOUTLEROW. — Sur un nouveau dérivé du méthane (*Annalen der Chemie und Pharmacie*, tome 115, page 322).

(2) TRILLAT. — A propos de l'histoire de l'hexaméthylènetétramine (*Bull. gén. de Thérap.*, 1915, CL XVIII).

(3) G. BARDET. — Recherches sur l'action thérapeutique de quelques dérivés du formol (*Les nouveaux remèdes*, 1894).

— Avantages thérapeutiques de la base hexaméthylène tétramine ou Formine (*Bull. de Thérap.*, Paris, 1901, CXLI).

— A propos de l'urotropine (C. R. de la Soc. de Thérapeutique, 1894).

Cependant ces derniers temps le corps médical et pharmaceutique, réagissant contre cette dénomination allemande, commence à employer le mot uroformine.

En 1895, NICOLAÏER, par de nombreuses expériences, montrait son pouvoir antiseptique, son degré de toxicité faible, et contrôlait son élimination constante et rapide dans l'urine (1). C'est encore BARDET qui, en 1901, attire l'attention sur la propriété que possède l'uroformine de dissoudre l'acide urique : les solutions urinaires de ce corps ne dissolvent pas les urates, tandis que les urines de malades traités par le médicament en sont un excellent dissolvant. D'où il conclut à la décomposition de l'uroformine dans le sang (2).

Cependant, en 1902, VINDEVOGEL, après de nombreuses expériences sur des cobayes, chiens et lapins, concluait que l'uroformine semblait ne pas se décomposer dans le sérum sanguin, et que la mise en liberté de formol se faisait seulement dans les urines.

KÖHLER (3), en 1904, la recherchant dans le sang et les organes, retrouve le formol jusque dans l'air exhalé des poumons.

Mais un pas décisif fut franchi en 1908 grâce aux expériences de CROWE (4) sur l'excrétion de l'hexaméthylènetétramine par la bile et le suc pancréatique, complétées l'année suivante au

(1) NICOLAÏER. — Sur l'emploi thérapeutique de l'utropine (*Centralblatt für die Medizinischen Wissenschaften*, n° 51, 1894).

— Sur l'emploi thérapeutique de l'urotropine (*Deutsche Medizinische Woche*, n° 34, 1895).

— Sur le traitement de la cystite avec fermentation ammoniacale par l'urotropine (*Der ärztliche Praktiker*, n° 12, 1897).

— Expériences cliniques sur l'urotropine (*Zeitschrift für Klin. Med.*, Band 38, 1899).

— Etude expérimentale et clinique sur l'urotropine et l'helminthol (*Deutsche Archive für Klin. Med.*, LXXXI, 1904).

(2) CORRIDI. — A propos de la décomposition de l'urotropine et des autres médicaments analogues dans l'organisme (*Pensiero med.*, 1913, III).

(3) KÖHLER. — Weitere Beiträge über die Wirkungsweise des Hexamethylentetramine (*Monatshefte für praktische Dermatologie*, 1904, XXXVIII).

(4) S.-J. CROWE. — Sur l'élimination de l'urotropine dans la bile et le suc pancréatique (*Arch. internat. de pharmacodyn.*, 1908, XVIII).

— Sur l'excrétion de l'urotropine dans le liquide céphalo-rachidien et sa valeur thérapeutique dans les méningites (*John Hopkin's Hosp. Bull.*, 1909, XX).

sujet du lait et du liquide céphalo-rachidien montrant ainsi sa diffusion générale dans tout l'organisme (1, 2).

Ces travaux servent de base, en 1911, à MM. CHAUFFARD et GRIGAUT, qui étudient de très près l'élimination de l'uroformine (3) chez des malades atteints de cholélithiase biliaire, et concluent « que l'élimination biliaire est constante, rapide, et « paraît aussi intense que l'élimination par les urines ». Mais ils constatent en même temps « que le formol n'existe pas, à « l'état de liberté, dans la bile des sujets traités par l'urotropine et ne s'y montre qu'à l'état de combinaison, et vraisemblablement sous forme d'urotropine ». Ceci semble bien contredire l'opinion de NICOLAÏER, puis de CASPER (4), qui croient prouver que l'uroformine est un composé instable qui met facilement du formol en liberté, en particulier sous l'influence de la seule température animale.

D'autre part CZYNIANSKI (5), en 1902, avait démontré que « l'urotropine en solution à 0,50 % possède une action bactéricide qui la place comme activité entre l'acide phénique et le sublimé ». (CHAUFFARD.)

Nous nous trouvons donc en présence de deux théories : 1° celle de NICOLAÏER, BARDET et KÖHLER qui prétendent que l'uroformine doit son activité antiseptique à la facilité qu'elle a de se dédoubler en formol et ammoniac.

2° Celle de VINDEVOGEL, LOEPER et GROSDIDIER, CZYNIANSKI, CHAUFFARD, qui prétendent que l'uroformine ne se dédouble pas dans l'organisme, mais que cela est sans importance, car l'uroformine intacte a un pouvoir antiseptique. Cette uroformine, d'ailleurs, introduite dans l'organisme par os, est re-

(1) DE BUSSCHER. — Sur l'excrétion de l'hexaméthylénamin (urotropine) dans la bile et le suc pancréatique (*Belgique méd.*, 1908, XV).

(2) BARTON. — Elimination of hexamethylenamin by the mucous membran of the middle ear and nasal sinuses. (*Boston Med. and Surg. Jour.*, 1910, CLXII).

(3) CHAUFFARD. — L'urotropine dans le traitement des infections biliaires aiguës et de la fièvre typhoïde (*Semaine médicale*, 8 mars 1911).

(4) L. CASPER. — Propriétés et indications de l'urotropine (*Deutsche Medizinische Woch.*, 1897, n° 45).

— Observations expérimentales et cliniques sur l'urotropine (*Monatshefte der Harn- und Sexual-Apparate*, Band III, n° 1, 1898).

(5) CZYNIANSKI. — L'action de l'urotropine comme antiseptique de l'urine, (*Allgemeine Wiener Medizinische Zeitung*, 1902).

trouvée dans les différentes humeurs de l'organisme (bile, suc pancréatique, lait, liquide céphalo-rachidien, etc...)

Par nos recherches, nous avons essayé d'éclaircir ce problème, en utilisant la nouvelle méthode de dosage de l'uroformine publiée récemment par M. GÉRARD et M^{lle} MOISSONNIER (1). Cette méthode n'ayant servi à ces auteurs que pour étudier la décomposition de l'uroformine dans le sang in vitro, paraissait devoir donner de bons résultats, en la transportant dans l'étude de la décomposition de ce corps dans l'organisme.

(1) Société de Biologie, 48 novembre 1922.

PREMIÈRE PARTIE

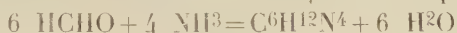
Propriétés physiques et chimiques de l'uroformine

Nous passerons rapidement sur les propriétés physiques et chimiques.

L'uroformine est un corps incolore, transparent, qui cristallise en rhomboèdres très brillants ; très stable, il se conserve indéfiniment à l'abri de l'humidité ; il est inodore et présente un goût sucré, puis un peu amer ; très soluble dans l'eau (81,3 %) à la température ordinaire

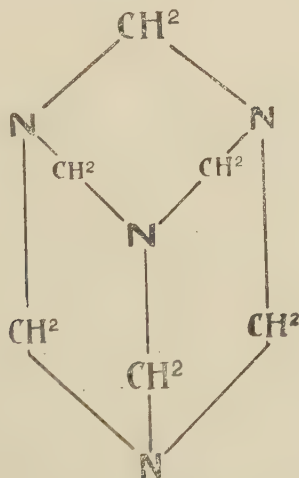
Sa formule est : $(CH^2)^6 N^4$.

C'est une amine dérivée de l'aldéhyde formique.



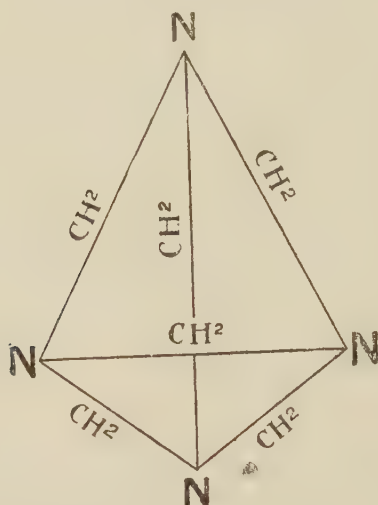
Au point de vue du développement de la formule de l'uroformine, il s'agit de répartir les dix groupes qu'elle contient, 6 CH^2 et N^4 , et de les assembler deux à deux ; cela peut donc prêter à de nombreuses combinaisons (1).

Une des principales formules est la formule de DUDEN et SCHARFF



(1) G. BEYTOUT. — *Uroformine*, thèse de pharmacie, Nancy, 1922, pages 74-75.

que l'on peut encore disposer de la façon suivante :



Un tétraèdre ayant à chaque sommet un atome d'azote et un CH_2 au milieu de chaque arête. Cette disposition permet d'interpréter les combinaisons que donne l'hexaméthylènetétramine avec certains corps tels que le cyanure de mercure (1).

On déduit que le dédoublement par hydrolyse de 1 gramme d'uroformine produit 0 gr. 40 d'azote ammoniacal et 1 gr. 28 de formol.

Inversement, 1 gramme d'azote ammoniacal se combine à 3 gr. 21 de formol pour former 2 gr. 5 d'uroformine.

La solution aqueuse est légèrement alcaline au papier tournesol.

Les acides, surtout à chaud, décomposent l'uroformine en formol et ammoniacque ; elle s'unit aux acides ainsi qu'à d'autres corps, notamment au brome, avec lequel elle donne une réaction caractéristique.

BOUTLEROW obtint l'urotropine en faisant passer un courant d'ammoniac sur de la poudre de trioxyméthylène. HOFMAN, en faisant passer un courant de vapeurs de formol dans de l'ammoniaque concentrée : TRILLAT, en faisant agir de l'ammoniaque sur de l'aldéhyde formique.

(1) R. DOURIS et G. BEYTOUT, — *Bull. soc. chim.*, 45, t. 33, p. 341, 1923.

N'oublions pas de citer les importants travaux de DELÉPINE ainsi que ceux de SOMMELET au point de vue de l'étude de l'hexaméthylènetétramine. On trouvera, d'ailleurs, dans la thèse de BEYTOUT, des détails très approfondis sur le mode de formation, la constitution et les combinaisons de l'uroformine.

Réactions de caractérisation de l'uroformine

Il existe peu de réactions spécifiques de l'uroformine. A part celle de l'eau bromée, qui est très imparfaite, toutes les réactions de caractérisation de l'uroformine sont empruntées aux réactions du formol.

La réaction de l'eau bromée se fait en ajoutant au liquide à examiner (urines) une solution saturée d'eau bromée ; il se fait un précipité jaune orangé qui disparaît très rapidement et ne se maintient qu'avec un excès de réactif. La réaction ne se produit qu'à froid dans les urines non albumineuses.

Deux réactions seulement, parmi les nombreuses méthodes qui permettent de mettre le formol en évidence, sont susceptibles d'une différenciation, d'ailleurs peu rigoureuse, du formol et de l'uroformine. Ce sont : 1° la réaction de Bono à la phénylhydrazine, en milieu acide, qui donne la même coloration rouge pour l'uroformine et le formol, mais cependant à des intensités différentes : l'uroformine donne une coloration moins prononcée.

2° La réaction de Schiff, à la rosaniline décolorée par l'acide chlorhydrique ; le formol ainsi que l'uroformine recolorent la rosaniline, mais si l'on ajoute de l'acide chlorhydrique, la couleur vire au bleu en présence du formol, tandis qu'elle disparaît en présence d'uroformine.

Ce sont là, on le voit, des méthodes assez imprécises.

Par contre, d'autres réactions du formol peuvent être appliquées à la recherche de l'uroformine (1).

1° Réaction de Gayon, basée sur la recoloration par le formol, en présence d'acide chlorhydrique, de la fuchsine préalablement décolorée par du bisulfite.

2° Réaction de Trillat : il fait agir la diméthylaniline après avoir acidifié par l'acide sulfurique. On chauffe au bain-marie

(1) *Formulaire des hôpitaux militaires*, tomell, pages 149-152.

une demi-heure, puis on alcalinise par de la soude, jusqu'à ce que l'odeur de rosaniline ait disparu. On filtre alors et on lave ; puis on arrose le filtre avec quelques gouttes d'acide acétique, et on projette une très petite quantité d'oxyde de plomb pulvérisé. S'il y a du formol, on obtient une coloration bleue.

3° Réaction de Hehner. Celle-ci est la plus sensible des réactions du formol ; c'est celle qui fut utilisée par CROWE pour ses recherches de l'uroformine dans les différents milieux de l'organisme.

On ajoute à quelques cm³ de la matière dans laquelle on veut caractériser le formol quatre ou six gouttes de lait. Le tout est étendu d'un égal volume du réactif suivant :

99 cm³ de SO²H².

1 à 3 gouttes de perchlorure de fer, complété à 100 avec de l'eau distillée.

Une coloration violet foncé se développe à la séparation des liquides en présence du formol.

Si le formol est trop concentré, il ne se produit pas de coloration.

On peut remplacer le lait par de la caséine. Le dosage peut être fait par comparaison colorimétrique avec une solution étalon.

On voit que toutes ces réactions, dont la sensibilité à l'égard du formol est non douteuse, nécessitent le traitement du produit étudié par des acides forts. Or, ces méthodes rendent impossible la recherche du formol en présence d'uroformine, et de ce fait même, elles étaient inutilisables pour nous qui cherchions à déceler la décomposition spontanée de l'uroformine dans l'organisme.

Réaction choisie. — Pour la recherche du formol, nous nous sommes donc arrêté à la réaction de Jorissen (1), à la phloroglucine. Il emploie la phloroglucine en solution à 1/100.000, donnant avec le formol une coloration violette (2) ; 25 cc. de

(1) JORISSEN. — *Chemisches Centralblatt*, 1898, I, 637.

(2) LAMAT. — Quelques réactions qualitatives du formol et notes sur des procédés de dosage de cette aldéhyde. (*Bull. Acad. roy. de med. de Belg.*, 1913, XXVII).

lait, par exemple, sont additionnés de 10 cc. de solution de phloroglucine, puis après avoir agité, 5 à 10 cc. de lessive de K au tiers sont ajoutés.

Cette réaction a été modifiée par SALKOWSKI (1), puis par VANINO. Ce dernier emploie de la phloroglucine en solution à 1 % et ajoute de la soude. Il prétend déceler ainsi 0.000.004 de formol. En mai 1920, HANSLICK (2) détermine une fois pour toutes les conditions de la réaction.

Le réactif est le suivant : solution de phloroglucine *blanche et cristallisée* à 1 % dans de la soude à 10 %. Ce réactif ainsi préparé se conserve bien, et permet d'avoir un degré d'alcalinité nécessaire à la réaction, sans dépasser celui où l'uroformine serait décomposée.

Nous avons trouvé à cette réaction une sensibilité maxima de 1/60.000^e de formol dans le sang. Tandis que des solutions d'uroformine à 1 % ne donnent aucune réaction.

En employant cette méthode, nous nous mettions dans des conditions meilleures que la plupart des auteurs qui, précédemment, ont cherché à déceler la décomposition spontanée de l'uroformine, car ils employaient des réactions en *milieu acide* qui provoquaient cette décomposition.

Technique de recherche dans le sang. — Mais pour que nous puissions utiliser cette réaction, il fallait pouvoir l'appliquer à la recherche du formol dans le sang. Quel traitement faire subir au sang pour en extraire le formol ?

Nous avons rejeté le procédé par distillation utilisé par CROWE, parce qu'il nécessite une acidification du sang par de l'acide sulfurique, et nous nous sommes arrêté à l'extraction par l'alcool à 95°, d'après les indications fournies par KÖHLER.

(1) SALKOWSKI. — Sur la teneur de l'urotropine en formaldéhyde dans l'organisme (*Biochemische Zeitschriften*, 1918, LXXXVII).

Zur Kenntnis einiger formaldehydreaktionen (*Biochemische Zeitschriften*, 1913, LXVIII).

(2) HANSLICK. — Degree of alkalinity necessary for the test for formaldéhyde (*J. of biol. chem.*, may, 1920).

HANSLICK et COLLINS. — Hexamethylenamine : The liberation of formaldehyde and antiseptic efficiency under different chemical and biological conditions (*Arch. int. med.*, 1913, XII).

Voici comment nous avons procédé :

Le sang total, reçu sur de l'oxalate de potasse, est additionné de cinq fois son volume d'alcool. Il est nécessaire de verser le sang par petites quantités dans l'alcool, et non pas l'alcool sur le sang. Car l'essentiel est de coaguler rapidement l'albumine pour éviter l'hémolyse. Après avoir bien agité le mélange, on filtre, et le filtrat est étendu de son volume d'eau distillée. On filtre à nouveau ; le second filtrat doit être parfaitement limpide. C'est dans ce filtrat que l'on fait la réaction à la phloroglucine.

Pour le dosage, il suffit d'établir des étalons colorés, et de faire une lecture comparative au colorimètre de Dubosq.

Si l'on opère sur le sérum sanguin, au lieu d'utiliser le sang total, il suffit de diluer ce sérum et d'y ajouter le réactif : la réaction y est aussi nette que dans le cas précédent, contrairement à l'opinion de KÖHLER qui prétend que la réaction est impossible dans le sérum sanguin. Cette réaction est sensible, comme nous l'avons dit, au $1/60.000^{\circ}$, lorsque l'on ajoute des quantités connues de formol à des quantités connues de sang. Elle paraissait donc suffisante pour toutes les recherches biologiques faites dans des conditions d'expérimentation normale. Or, en pratique, nous n'avons jamais retrouvé le formol dans le sang d'animaux ayant reçu de l'uroformine, même lorsque nous savions, grâce à la méthode de P. Gérard et Moissonnier (1) que nous indiquons plus loin, que l'uroformine s'y était décomposée, très partiellement il est vrai. Car les quantités de formol libérées par l'uroformine injectée dans le sang sont tellement faibles, que la réaction, si sensible qu'elle soit, ne permet pas d'en déceler la présence.

En effet, d'après nos calculs, que nous exposerons en détail dans les pages suivantes, la quantité maxima de formol libéré serait environ de 0 gr. 03 par litre de sang, pour une injection intra-veineuse de 2 gr. d'uroformine à un chien de seize kilos. Ce qui nécessiterait une sensibilité de réaction d'au moins $1/300.000^{\circ}$.

(1) P. GÉRARD et M^{lle} S. MOISSONNIER. — Méthodes de dosage de l'urotropine. Recherches sur sa décomposition dans le sang in vitro. C. R. Société Biologie, 18 novembre 1922, tome LXXXVII, 1073.

De plus, on peut adresser à cette méthode le reproche commun à tous les procédés colorimétriques, de manquer de précision.

Dosage de l'ammoniaque. — C'est en voyant l'impossibilité d'obtenir avec les méthodes employées jusqu'ici, des résultats précis, que nous avons pensé à nous orienter vers le dosage de l'autre élément de décomposition de l'uuroformine : l'ammoniaque.

On possède en effet, à l'heure actuelle, des méthodes extrêmement précises de dosage de l'ammoniaque dans le sang, qui devaient nous permettre de déceler la moindre décomposition de l'uuroformine dans le milieu sanguin. L'expérience est venue confirmer pleinement notre hypothèse, et nous avons obtenu, par ce procédé, des résultats précis.

La technique du dosage de l'ammoniaque a été bien définie depuis trois ans. En septembre 1919, FOLIN (1) publiait une méthode dont le principe est le suivant : un fort courant d'air entraîne l'ammoniaque déplacée de ses combinaisons par du carbonate de potasse, au sein d'une liqueur acide que l'on traite ensuite par le réactif de Nessler. On dose au colorimètre Dubosq, ingénieusement modifié par Folin.

En novembre de la même année, P. GÉRARD (2) publiait, à la Société de Biologie, une modification de la technique de FOLIN, remplaçant le dosage colorimétrique par un dosage volumétrique, ce qui rendait la méthode plus précise, et surtout plus constante, parce que moins sujette à l'appréciation personnelle de l'opérateur.

Il est nécessaire de donner en détail la technique du dosage de l'ammoniaque dans le sang, car celle-ci est extrêmement délicate et forme la base de la technique du dosage de l'uuroformine (3).

(1) OTTO FOLIN. — *Journal of biological chem.*, septembre 1919.

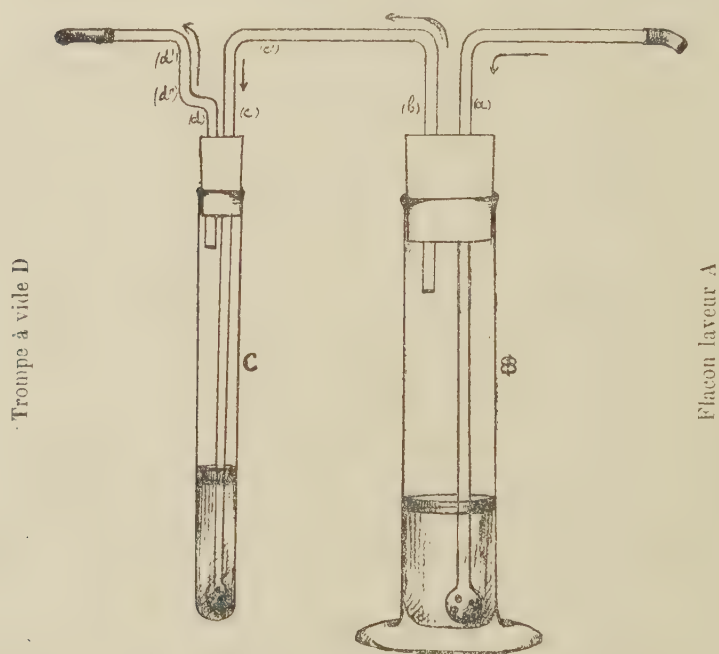
(2) P. GÉRARD. — Dosage de l'ammoniaque dans le sang par une méthode volumétrique (C. R. de Soc. de Biol., novembre 1919).

(3) P. GÉRARD et M^{lle} S. MOISSONNIER. — Méthode de dosage de l'urotropine. Recherche sur sa décomposition in vitro (C. R. Soc. Biol., 18 novembre 1922).

Technique du dosage de l'ammoniaque dans le sang. — Il est bon de consacrer une place spéciale dans le laboratoire au dosage de l'ammoniaque dans le sang. On comprend, en effet, que les quantités d'ammoniaque à doser étant de l'ordre du $1/100^e$ de milligramme, on ne saurait prendre trop de précautions pour éviter toute souillure par une trace d'un alcali ou d'un acide quelconque.

Description de l'appareil. — L'appareil dont on se sert est composé :

1° D'un flacon laveur A, contenant une solution d'acide sul-



furique fort ; ce flacon est à deux tubulures ou bouché par un bouchon en caoutchouc à deux trous. Il est en rapport d'un côté avec un compteur à gaz, de l'autre avec les autres parties de l'appareil. L'air étant aspiré par une trompe à vide placée en D, doit donc en premier lieu traverser le flacon laveur, et s'y débarrasser ainsi de toute trace d'alcalinité.

2° D'une éprouvette B, en verre neutre dont les dimensions sont les suivantes : hauteur 22 cm., diamètre 3 cm. C'est là

que se trouvera le liquide à analyser en présence de $\text{CO}^3 \text{Na}^2$. Elle est bouchée par un bouchon de caoutchouc à deux trous ; par l'un d'eux passe une tubulure (a) qui est en communication avec le flacon laveur par un petit tuyau de caoutchouc. Cette tubulure est soudée à angle droit et son autre extrémité, qui plonge au fond de l'éprouvette, est terminée par une petite boule de 0 cm. 5 de rayon, et percée de huit trous.

C'est par cette tubulure que l'air est amené dans l'éprouvette et, en barbotant, il se charge de l'ammoniaque déplacée par le $\text{Co}^3 \text{Na}^2$.

3° D'un tube C, également en verre neutre de 22 cm. de hauteur et 1 cm. 8 de diamètre, qui est, lui aussi, bouché par un bouchon de caoutchouc à deux trous, et pénétré par deux petits tubes de verre (c) et (d) de même diamètre que (a) ; (c) se termine également par une petite boule de verre qui plonge au fond du tube C et permet l'arrivée et le barbotage de l'air chargé d' NH^3 dans le liquide. L'autre extrémité est coudée deux fois et traverse le deuxième trou du bouchon de l'éprouvette B dans la partie supérieure de laquelle plonge le tube de verre ; (d) est mis en relation avec la trompe à vide, mais un peu au-dessus de la surface extérieure du bouchon, un coude de 2 cm. déplace la lumière de la tubulure, et de cette façon, les petites gouttelettes de liquide qui malgré l'emploi d'un anti-mousse pourraient être entraînées jusqu'en (d'), sont entraînées en (d''), et facilement récupérées au moment du dosage.

Plusieurs appareils peuvent être montés en série, ce qui permet d'exécuter plusieurs dosages à la fois. On relie les différents appareils les uns aux autres par de petits tubes de caoutchouc de parois épaisses et de diamètre étroit. L'extrémité de chaque tubulure est d'ailleurs légèrement renflée en ampoule, ce qui permet une adhésion meilleure.

Pour exécuter un dosage, on commence par rincer soigneusement chaque éprouvette et chaque tube trois fois avec de l'eau distillée.

D'autre part, deux burettes de Mohr graduées au $1/20^{\circ}$ de cm^3 , sont remplies l'une d'acide sulfurique centi-normal, l'autre de soude correspondante. On mesure alors, à la burette,

dans le tube C, la quantité d'acide sulfurique que l'on juge nécessaire au dosage. Pour un sang normal, 40 divisions, c'est-à-dire 2 cm³ d'acide suffisent largement pour le dosage. Si l'on a un sang chargé en ammoniacque, on calcule approximativement la quantité contenue dans la prise de sang, et on met en C une quantité d'acide suffisante pour qu'il y en ait un léger excès.

On complète ensuite à 10 cm³ avec de l'eau distillée rigoureusement neutre (1), puis on ajoute 1 cm³ d'acide caprylique, comme anti-mousse et une goutte d'hélianthine de façon à pouvoir contrôler constamment l'acidité du milieu pendant le barbotage.

On mesure ensuite dans l'éprouvette B :

10 cm³ de sang reçu sur de l'oxalate de potasse ;

2 grammes de CO³ Na² pur, sec et pulvérisé ;

10 cm³ d'eau distillée ;

2 cm³ d'alcool caprylique.

N'ayant jamais pu nous procurer du carbonate de potasse, nous avons fait tous nos essais avec du CO³Na². Nous avons primitivement employé une solution à 20 % de CO³Na², dont nous mettions 10 cm³ pour le dosage, comme l'avait indiqué P. GÉRARD dans sa communication. Cette quantité nous ayant paru insuffisante, nous ajoutions 4 grammes de CO³Na² pulvérisé dans l'éprouvette. Mais en opérant de cette façon sur le sang total non déféqué, nous avons éprouvé de grosses difficultés, car ce CO³Na² ne se dissolvait pas entièrement dans le sang, et formait avec lui une pâte qui obstruait les trous de la petite boule plongeant au fond de l'éprouvette. L'entrée de l'air se trouvait par ce fait arrêtée et si cet arrêt était brusque, il se faisait une aspiration de l'acide placé en C par le tube d'entrée de l'air (c). Or, malgré toutes les précautions le tube (c) à partir du coude (c') est toujours alcalin, par suite de l'entraînement de petites parcelles de CO³Na² et le dosage était de ce fait manqué.

(1) Pour se rendre compte de la neutralité de l'eau distillée il suffit de joindre à 10 cm³ de cette eau une goutte de solution d'hélianthine à 0,5% et d'y verser une goutte de la solution 1/100 d'acide sulfurique. Le virage acide doit se faire avec cette seule goutte.

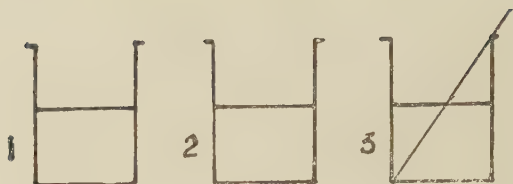
Nous avons alors essayé des dosages sur des quantités théoriques d'ammoniaque, en n'employant que 2 gr. de CO^3Na^2 , et en le diluant avec 10 cm³ d'eau distillée. Nous avons constaté que cette quantité de CO^3Na^2 était suffisante pour déplacer tout l'ammoniaque et nous avons pu réussir à faire barbotter 200 litres d'air sans le moindre ennui.

L'appareil étant en place, on réunit les tubulures les unes aux autres, comme l'indique la figure, par de petits morceaux de caoutchouc. Il est bon de glycériser l'extrémité de ces petits caoutchoucs, car il est assez difficile de les adapter aux ampoules qui terminent les tubulures.

On place sur le caoutchouc qui relie le dernier tube à la trompe à vide, une pince à vis que l'on ferme entièrement. On ouvre la trompe en grand, puis progressivement la pince à vis, de façon à faire passer l'air bulle à bulle pendant les cinq premières minutes. On règle ensuite la pince à vis pour que le régime de l'air aspiré soit de deux litres à la minute ; ce que l'on vérifie au compteur à gaz. Ce régime de deux litres est imposé par le barbotage. Lorsqu'on accélère la vitesse de l'air, l'antimousse ne suffit plus à empêcher la formation de gouttelettes qui giclent contre les parois des tubes, et constitueraient des pertes pour le dosage.

On fait passer ainsi 200 litres d'air ; puis on arrête le barbotage de la façon suivante : on réduit petit à petit la vitesse de l'air de moitié au moyen de la pince à vis, et, tout en continuant à aspirer l'air, on dissocie d'abord le premier appareil du flacon laveur. Puis on dissocie le second appareil du premier, et ainsi de suite jusqu'à ce que l'on arrive au caoutchouc qui relie le dernier tube à la trompe. A ce moment le barbotage est arrêté dans tous les appareils. Cette façon d'arrêter l'aspiration de l'air est indispensable, car si l'on cesse brusquement de faire passer l'air, il se produit instantanément une aspiration en sens contraire, et l'acide contenu dans le tube C est refoulé dans l'éprouvette B.

Il s'agit alors de titrer l'acide contenu en C. Pour cela, on prépare trois petits vases identiques en verre de Bohême : on les rince trois fois à l'eau distillée.



Dans les vases 1 et 2, on mesure un égal volume d'eau distillée et trois gouttes d'hélianthine.

Dans le 1, on ajoute deux gouttes de la solution 1/100 N d'acide sulfurique ($1/20^{\circ}$ de cm^3), ce qui produit un virage acide. Dans le 2, on ajoute deux gouttes de la solution de soude. La teinte neutre est intermédiaire et très facilement appréciable en la comparant alternativement avec les deux teintes témoins. On peut donc ainsi apprécier le virage de l'hélianthine diluée à deux gouttes de solution 1/100 N, contenue dans une burette graduée au $1/20^{\circ}$ de cm^3 ; ce qui représente une erreur absolue de 0 gr. 000.006 d'azote ammoniacal.

Dans le verre 3, on transvase le liquide contenu en C. Pour cela, on commence par dissocier le tube C de l'éprouvette B. Là encore un petit détail de technique est à observer : il faut déboucher l'éprouvette B pour sortir du bouchon en caoutchouc le tube (b). Mais il faut avoir soin, avant de tirer sur le bouchon, de soulever le tube (a), de façon que la boule de verre qui plonge dans le sang soit élevée au-dessus du niveau de ce sang. Cela permet à l'air de rentrer dans l'éprouvette et évite une aspiration de l'acide dans le coude (c').

Ceci fait, on débouche à son tour le tube C et sans poser le bouchon par lequel passent les tubulures (c) et (d), on fait écouler le liquide le long d'un petit agitateur en verre dans le vase 3. Il suffit de saisir le bouchon de caoutchouc entre le petit doigt et le bord cubital de la main gauche, tout en tenant l'agitateur entre le pouce et l'index de la même main ; le tube est renversé de la main droite restée libre.

Lorsque tout le liquide est écoulé, on pose l'agitateur dans le petit vase, et on passe le tube C dans la main gauche, qui tient toujours le bouchon et les tubes ; de la main droite, on introduit dans le tube C deux cm^3 d'eau distillée et on adapte

à nouveau le bouchon et les petits tubes. On rince soigneusement les parois du tube et le bouchon en agitant et en renversant le tube. Puis, on introduit par la tubulure (d) un cm³ d'eau distillée qui entraîne les gouttelettes d'acide ayant pu être entraînées jusqu'en (d'). On verse le produit de ce premier rinçage dans le petit vase, en opérant exactement comme la première fois.

De la même façon, on procède ensuite à un deuxième rinçage avec deux cm³ d'eau distillée, auxquels on joint une goutte d'hélianthine ; généralement, il ne reste plus que des traces d'acide à ce rinçage ; on le verse dans le vase. Un troisième rinçage, en présence d'une goutte d'hélianthine, indique toujours que tout l'acide a été entraîné, car le liquide prend la teinte neutre ; mais afin de s'assurer que l'acide n'a pas été souillé par des traces de CO_3Na^2 qui aurait pu être entraîné jusque dans la tubulure (c), nous ajoutons deux gouttes d'acide sulfurique 1/100 N au troisième liquide de rinçage ; puis, en soufflant par la tubulure (d), nous faisons monter cette eau acidulée jusqu'au bouchon. Si l'eau ne vire pas au jaune, nous sommes certain que rien n'est venu fausser notre dosage.

On peut alors procéder au titrage en faisant écouler la soude dans le petit vase jusqu'au virage qui est très facilement apprécié, grâce aux deux teintes témoins 1 et 2.

Il est bon de joindre aux dosages, un dosage témoin contenant une quantité connue d'ammoniaque, sous forme de un cm³ de solution d'oxalate d'ammoniaque (0.507 0/00) dont le titre correspond à 0 gr. 10 0/00 d'azote ammoniacal, ce qui représente 0 gr. 00010 d'azote ammoniacal, ainsi qu'un dosage à vide de l'eau distillée destiné à apprécier la perte d'acide que font subir les manipulations diverses dont on doit tenir compte dans l'appréciation des résultats. Voici à titre d'exemple, quelques résultats de ces dosages témoins obtenus par nous et confirmant ceux publiés par P. GÉBARD :

1 : mis 0 gr. 000.100 d'N NH_3 , trouvé 0, 000105
 2 : — — — — — 0, 000098

De même des dosages témoins opérés sur le même sang avec des prises différentes nous ont fourni les résultats suivants (l'azote ammoniacal est rapporté au litre) :

Prise 5 cm³ de sang, taux par litre 0 gr. 0105
— 10 cm³ — — — — 0 gr. 0110

Le calcul des résultats se fait de la façon suivante :

1) Soit N le nombre de cm³ de SO⁴ H² 1/100 N mesurés au préalable dans le tube C.

2) Soit n' le nombre de cm³ de Na OH 1/100 N nécessaires à obtenir la teinte neutre.

3) Soit n'' la quantité d'acide perdu par le fait des manipulations et appréciée dans un dosage à vide.

(n-n'')—n'=nombre de cm³ d'acide neutralisés par l'ammoniaque. Tous les résultats étant exprimés en azote, une solution de 1/100 N de soude correspond à 0 gr. 014 d'azote 0/00 ou, par cm³, à 0 gr. 000014.

Il suffit alors de multiplier (n-n') par 0.000014 pour obtenir la quantité d'azote ammoniacal contenue dans la prise d'essai.

Nous avons étudié également la méthode de dosage de l'ammoniaque dans le sang déféqué à l'acide trichloracétique à 20 %, à parties égales de sang et d'acide (méthode publiée dans la thèse de M^{lle} S. MOISSONNIER) (1). Dans ce cas, avant d'ajouter le CO³Na² qui doit libérer l'ammoniaque, il faut neutraliser, avec de la lessive de soude en présence d'une goutte d'hélianthine, l'acide trichloracétique qui a été ajouté comme déféquant.

Nous avons remarqué, comme l'ont déjà écrit plusieurs auteurs, que le sang déféqué par l'acide trichloracétique libère toujours plus d'ammoniaque en présence du carbonate de soude, que le sang traité uniquement par ce même carbonate de soude. A ce sujet, les auteurs ne sont pas d'accord ; la théorie la plus généralement admise est que l'acide trichloracétique a une action hydrolysante sur les groupes aminés des molécules albuminoïdes, et forme à leurs dépens de l'ammoniaque. Voici, ci-dessous, des exemples qui indiquent les différences trouvées pour des dosages faits avec ou sans défécation :

(1) M^{lle} S. MOISSONNIER. — Thèse de Paris, 1921 (Médecine). *Etude de la toxicité des sels ammoniacaux*.

Sang non déféqué.....	0 gr. 0035 N NH ³ 0/000	
Même sang déféqué.....	0 gr. 0098	—
Sang non déféqué.....	0 gr. 0096	—
Même sang déféqué....	0 gr. 0114	— 1

Ces différences sont, on le voit, assez sensibles, reportant le taux moyen de l'ammoniaque dans le sang déféqué à 0.01 0/00, tandis que dans le sang non déféqué, il n'est que de 0,007. Pour comparer deux résultats, il importera donc de toujours opérer de la même manière pour les deux témoins, soit avec, soit sans défécation.

Nous avons alors adopté la méthode de dosage de l'uroformine publiée par P. GÉRARD et S. MOISSONNIER et nous avons vérifié sur plusieurs échantillons de sang additionnés d'uroformine que le milieu fortement alcalin nécessaire pour obtenir le dégagement de l'ammoniaque n'avait aucune action sur l'uroformine. Nos recherches ont confirmé les résultats trouvés par les précédents auteurs.

Nous avons alors procédé à la vérification de la méthode de dosage de l'uroformine par addition d'acide trichloracétique et d'acide chlorhydrique au sang contenant l'uroformine.

Nous avons essayé, pour gagner du temps, de modifier la technique de P. GÉRARD et S. MOISSONNIER en augmentant la quantité d'HCl ajoutée au filtrat après défécation. Nous espérons ainsi ne pas être obligé d'attendre 24 heures avant de procéder au dosage, ou de chauffer au bain-marie.

Dosage de l'uroformine. — En réalité, il ne suffit pas de mettre en présence de l'uroformine avec une quantité plus forte d'HCl, et de faire le dosage sitôt après. L'expérience nous a prouvé qu'on ne retrouvait pas le 1/20^e de la quantité d'uroformine ajoutée, même dans le cas où on ajoutait 3 cc. d'HCl pour 10 cc. de filtrat total.

Voici quelques chiffres qui indiquent les résultats que nous avons eus :

Dans une éprouvette, nous avons mesuré 10 cc. de filtrat (sol + acide trochlor.) contenant 2 gr. 50 d'uroformine 0/00 de sang, soit 0 gr. 0125 d'uroformine.

Après le dosage de 200 litres d'air, nous n'avons retrouvé que 0,000105 d' H NH_3 , soit 0,00026 d'uroformine.

Dans une deuxième éprouvette, nous avons ajouté à l'uroformine et à l'acide trichloracétique 3 cc. d' HCl pur.

Le résultat fut en N NH_3 de 0,00210, soit 0,00052 d'uroformine.

Nous avons alors répété l'expérience en plaçant les deux éprouvettes 24 heures à l'étude à 37° , et nous avons obtenu des chiffres théoriques, à 0,00492 et 0,00593 d' N NH_3 , soit en uroformine 0,0123.

Nous n'avons pas trouvé d'avantage à augmenter la proportion d' HCl et nous nous en sommes tenu strictement à la méthode publiée.

DEUXIÈME PARTIE

Décomposition de l'urotropine dans le sang

Décomposition in vitro. — Les expériences de P. GÉRARD et S. MOISSONNIER nous ayant montré que l'uroformine ne se dédoublait dans le sang in vitro que dans des proportions très faibles ($1/15^e$ de son poids après 24 heures de contact à 37°), nous avons essayé de mettre cette décomposition en évidence par la recherche du formol dans le sang, suivant la technique que nous avons exposée plus haut. En même temps nous avons dosé l'ammoniaque libéré et l'uroformine pour pouvoir comparer les deux méthodes.

Nous avons donc prélevé à un chien 100 cm³ de sang.



Puis nous avons partagé ces 100 cm³ en deux parts égales A et B. L'une A, fut additionnée d'uroformine dans la proportion de 0,0025 par cm³ ; l'autre, B, fut laissée telle quelle.

Le sang A fut à nouveau divisé en deux parts, dont l'une fut laissée à la température du laboratoire, et l'autre mise à l'étuve à 37° . Ceci devait nous servir à étudier la décomposition de l'uroformine en présence de sang in vitro à la température du laboratoire et à 37° .

Le sang B fut, lui aussi, divisé en deux parts qui furent traitées de la même façon que les parts du sang A. Les dosages de ce sang devaient nous servir de témoins, et nous permettre

ainsi d'apprécier la teneur normale du sang en ammoniacque pendant les différentes phases de l'expérimentation. Nous pouvons consigner les résultats de notre expérience dans le tableau suivant :

		Température du Laboratoire	37.
Uroformine ajoutée.....		2 gr. 50	2 gr. 50
Uroformine décomposée	recherche par N NH_3 (1)	0, 006	0, 082
	recherche par HCHO ..	0	0

D'après ce tableau nous constatons par le dosage de l' NH_3 une légère décomposition de l'uroformine à la température de 37° que la recherche par le formol ne peut déceler.

Par prudence, nous avons ajouté à un de ces tubes du formol dans la proportion de $1/60.000^\circ$ et nous avons eu une réaction nette. En calculant, on s'aperçoit que les quantités de formol libérées étaient très faibles (si nous nous en rapportons à nos dosages d'ammoniacque) ; nous nous trouvions donc en présence d'une solution de formol (dans le tube), à 0 gr. 105 0/00. Comme les manipulations exigées par la réaction nous obligent à opérer sur un sang dilué au $1/12^\circ$, cela représenterait une solution à 0 gr. 00875 0/00, soit moins de $1/100.000^\circ$. Or, la limite de la réaction étant de $1/60.000^\circ$, on voit qu'il était impossible de déceler des traces de formol aussi infinitésimales. Nous avons alors essayé de diluer moins notre sang, mais la réaction était masquée par la matière colorante du sang, insuffisamment précipitée par l'alcool. Comme contrôle, nous avons dosé l'uroformine dans les deux échantillons du sang A, et nous avons retrouvé 2 gr. 41 d'urofermine sur 2,50 ajoutés, ce qui nous prouve que nous n'avons pas eu de pertes.

Notre technique était donc bien établie, et prouve la supériorité incontestable du dosage de l'ammoniacque pour apprécier de faibles décompositions de l'uroformine. Cette méthode de recherche permet non seulement de déceler cette décomposition, mais encore d'en apprécier la valeur avec une grande précision. C'est à ce procédé que nous allons avoir recours pour l'expérimentation sur l'animal.

(1) Les chiffres d'uroformine ont été calculés l'après les taux de N NH_3 obtenus dans le sang, déduction faite de la teneur des témoins en N NH_3 .

Décomposition de l'uroformine in vivo. — Nos expériences sur l'animal ont été faites uniquement sur des chiens, animaux que nous pouvions nous procurer avec assez de facilité et auxquels il nous était possible de prélever une assez grande quantité de sang.

Ces expériences comportent deux ordres de recherches :

1° Nous avons voulu voir si l'élimination de l'uroformine injectée dans les veines était aussi rapide que certains auteurs l'ont affirmé, prétendant que le formol se retrouve dans l'urine cinq minutes après l'injection. Et, si cette élimination était rapide, dans quelle proportion se faisait-elle ?

2° Sous quelle forme se trouve l'uroformine que l'on injecte dans le sang circulant ; y est-elle décomposée et dans quelle mesure ?

Nous avons à résumer pour ce travail quatre expériences comportant une injection d'uroformine intra-veineuse et le dosage de l'ammoniaque dans le sang avant et après l'injection, parallèlement à la recherche du formol.

Rapidité d'élimination de l'uroformine. — Nous prenons un chien de 17 kgs 100 ; nous lui retirons à l'artère fémorale 50 cc. de sang. La canule restant en place dans l'artère, nous lui injectons dans la veine 8 cm³ d'une solution d'uroformine à 0 gr. 25 par cm³ dans du sérum physiologique à 4 0/100 ; la solution était ainsi à peu près isotonique et la quantité injectée correspond à 0 gr. 117 d'uroformine par kilo, ou 0,175 par kilo de milieu liquide en estimant celui-ci à 67 % du poids total. Cette quantité était calculée pour que, au cas où cette uroformine se décomposerait intégralement dans l'organisme, la quantité d'ammoniaque provenant de cette décomposition n'augmente pas le taux sanguin ammoniacal au-delà de la dose toxique de 0 gr. 07 d' NNH_3 par kilo. En effet, les 2 grammes d'uroformine injectés sont susceptibles de fournir 0 gr. 80 d' NNH_3 . Si nous admettons que cette ammoniaque se répartit uniformément dans l'ensemble des humeurs de l'organisme qui représentent 67 % du poids total, nous aurions donc un taux ammoniacal sanguin de 0,07 qui serait à la limite de toxicité.

Le chien supporte d'ailleurs l'injection de la totalité sans manifester aucun symptôme.

La première prise de sang a lieu 50 minutes après l'injection, puis 1 h. 35 et 24 heures après.

Sur chaque échantillon de sang, nous avons étudié :

1° La rapidité d'élimination de l'uroformine. Pour l'apprécier, nous avons procédé aux dosages de l'ammoniaque et de l'azote total, dont l'augmentation dans le sang correspondait à l'azote contenu dans la molécule d'uroformine introduite dans l'organisme.

2° Nous avons également dosé l'urée, afin de vérifier si la quantité d'ammoniaque mise en liberté par une décomposition de l'uroformine n'était pas immédiatement transformée par le foie en urée.

Nous avons constaté, par les dosages de l'ammoniaque faits sur le sang déféqué, et en contact avec 1 cm³ d'HCl pendant une demi-heure au bain-marie, ainsi que par les dosages d'azote total, que 50 minutes après l'injection, l'uroformine se trouve encore dans le sang circulant, et en presque totalité. Nous avons, en effet, obtenu, entre le taux ammoniacal sanguin avant et après l'injection, une augmentation de 0 gr. 0534 par litre de sang, ce qui représente 0,1335 d'uroformine sur 0,175 injectés : soit les 5/7 environ.

Le dosage d'N total confirme le dosage précédent ; l'augmentation de l'azote total est, en effet, de 0,062 0/00, soit 0 gr. 155 d'uroformine (1).

1 h. 35 après l'injection, l'élimination est commencée ; le

(1) Pour le dosage de l'azote total dans le sang, nous avons emprunté une technique très précise, dérivée de la méthode de Kjeldhal, et qui permet de faire les dosages de l'N total sur une petite quantité de sang. On opère sur du sang déféqué à parties égales par de l'acide trichloracétique à 20 %. 10 ccm du filtrat sont introduits dans un ballon avec 5 cc de SO⁴ H² pur et 1 gr. 50 d'oxalate de K. On chauffe jusqu'à décoloration complète du liquide, puis on maintient à l'ébullition pendant trois quarts d'heure après cette décoloration. On introduit alors dans le ballon 25 cc de lessive de soude et 150 cc d'eau distillée. On distille dans un appareil de dimensions réduites, et l'on reçoit le distillat dans un verre à pied contenant 5 cc d'SO⁴ H², 4/10 N additionné de deux gouttes d'hélianthine. Lorsque 400 cc sont distillés, on vérifie à l'aide d'un papier tournesol imbibé d'eau distillée s'il ne passe plus de produit alcalin, et on dose l'acidité restante dans le verre à pied même, par de la soude correspondant à l'acide 1/10 N.

sang contient encore un excès de 0,046 d' NNH_3 , soit un peu plus de la moitié de l'uroformine injectée.

Enfin, après 24 heures, le taux ammoniacal est redevenu complètement normal, et même légèrement inférieur à ce qu'il était avant l'expérience. Les chiffres d'azote total viennent confirmer les dosages précédents, et nous démontrent qu'après 24 heures, l'uroformine a été complètement éliminée.

Au cours de ces trois prélèvements de sang, l'urée varie extrêmement peu, et ces variations sont inférieures aux erreurs de dosage.

Voici, d'ailleurs, le tableau résumant les chiffres obtenus :

	Sang avant	Après 50'	après 1 h. 35	après 24 heures
		— uroform.	— uroform.	— uroform.
N total	0,378	0,440 = 0,455	0,428 = 0,425	0,280 0
N NH_3	0,0124	0,0658 = 0,1335	0,058 = 0,115	0,0084 0
N urée	0,135	0,144	0,167	0,280

En consultant ce tableau, et en comparant les quantités d'uroformine représentées par les chiffres d'azote total et d'azote ammoniacal trouvés par les deux méthodes de dosage, nous voyons que ceux-ci sont identiques, à 6 % près.

En ce qui concerne les urines, nous avons vérifié une fois de plus que les constatations précisées sont impossibles chez le chien. Que déduire, en effet, de chiffres dont les écarts dus aux variations physiologiques de l'organisme sont supérieurs à ceux provoqués par l'expérience ?

Dans le cas présent, le chien était en cage depuis vingt-trois jours, soumis à un régime alimentaire fixe, et ses urines étaient conservées ; chaque jour on y dosait l'ammoniaque, l'urée et l'azote total. Nous exposons ci-dessous un tableau des chiffres obtenus deux jours avant l'expérience et quatre jours après.

Nous constatons d'abord, entre les deux jours qui précèdent l'injection, une différence notable du chiffre de l'émission qui passe de 235 à 400 cm³. Malgré cette variation, nous admettons néanmoins que l'équilibre azoté, calculé sur 24 heures, est à peu près établi.

Le lendemain de l'expérience, baisse de l'émission, baisse de l'ammoniaque, de l'urée, augmentation de l'azote total. Cette dernière variation aurait pu s'expliquer par l'élimination de

l'uroformine injectée, si les troisième et quatrième jours qui suivent l'injection, nous ne retrouvons pas une nouvelle augmentation de l'azote total, supérieure à celle du lendemain de l'expérience. De même, le deuxième jour après l'injection, l'ammoniaque baisse de plus de moitié pour reprendre un taux normal le cinquième jour.

	Sang avant			Urine après		
	30-1	1-2	2-3	6-4	4-6	6-7
Emission	235 ccm	400	225	140	260	215
N NH ₃ (Folin)	0,26	0,254	0,187	0,07	0,23	0,25
N NH ₃ (Ronchèse)	0,211	0,263	0,184	0,05	0,26	0,30
N (urée)	3,206	3,033	2,99	1,59	3,71	3,91
N total	3,75	3,97	4,25	2,19	4,95	5,11
Sang (recherche par la méthode Meyer)	—	—	+	+	+	+

Devant une telle discordance de résultats, nous avons résolu d'abandonner les recherches portant sur l'urine, pour porter nos efforts uniquement sur le milieu sanguin, de composition à peu près invariable.

La seule chose intéressante à noter est l'apparition de sang dans les urines le lendemain de l'injection d'uroformine. Il fut trouvé en plus grande quantité les deuxième et troisième jours qui suivirent l'expérience,* où la réaction atteignit son maximum d'intensité, puis elle disparut peu à peu.

Nous savions dès lors que le chien supportait sans aucun trouble sérieux (à part une légère hématurie), une injection intra-veineuse d'uroformine de 0 gr. 175 par kilo, et nous savions que cette uroformine séjournait dans le milieu sanguin un laps de temps suffisant pour permettre d'en étudier sa transformation possible.

TROISIÈME PARTIE

Etude de la décomposition de l'uroformine dans l'organisme

Première expérience. — Nous avons donc recommencé une expérience en opérant avec les mêmes précautions. Mais cet essai est entaché d'erreur par suite de la mort rapide du chien en expérience. Nous la donnons néanmoins, car les chiffres, sans être absolument contradictoires avec les chiffres des expériences suivantes, donnent déjà des indications de même sens :

Un chien de 15 kilos reçoit dans les veines 7 cm³ d'une solution d'uroformine à 0 gr. 25 par cm³, en solution dans du sérum physiologique à 4 o/oo. Nous prélevons du sang avant, puis 20 et 30 minutes après l'injection. Malheureusement, ce chien ayant déjà subi une opération préalable, ne supporta pas la seconde prise de sang, et mourut à ce moment.

Nous avons effectué sur le sang recueilli les dosages de l'ammoniacque, *en ne déléquant pas le sang*, ainsi que les dosages de l'azote total. Nous avons obtenu une légère augmentation du taux ammoniacal sanguin après l'injection dans le sang non déléqué, c'est-à-dire en ne décomposant pas l'uroformine. Cependant, cette augmentation ne paraît pas due à la décomposition spontanée de l'uroformine dans l'organisme, mais plutôt, au commencement d'asphyxie qui accompagne l'agonie ; car l'azote total a subi une augmentation bien supérieure à la quantité d'azote qu'aurait fourni l'urotropine injectée.

Voici les chiffres obtenus :

	Sang avant	Sang après 20'	Sang après 30'
N total.....	0,35	0,63	0,67
N NH ³	0,0035	0,0168	0,0154

Nous avons injecté 0 gr. 174 d'uroformine par kilo de milieu liquide, ce qui devait fournir par la décomposition 0,07 d' NNH^3 par litre.

On se rend compte cependant par ces chiffres que l'uroformine ne se décompose pour ainsi dire pas dans le sang, ce que vont confirmer les deux autres expériences faites dans de bonnes conditions.

Deuxième expérience. — Un chien de 11 kgs 500 reçoit dans les veines 5 cc. 4 de solution d'uroformine à 0 gr. 25 par cm³, en solution dans du sérum physiologique à 4 0/00.

Nous lui prélevons du sang avant, 20 minutes et 40 minutes après l'injection.

Dans chaque échantillon de sang, nous dosons l'ammoniaque sans défécation préalable, et l'uroformine par le procédé de défécation et acidification du sang. La recherche du formol est également effectuée sur les deux derniers échantillons.

Nous avons obtenu, pour le sang non déféqué (c'est-à-dire dans la recherche de l'ammoniaque mise en liberté par une décomposition spontanée de l'uroformine), des chiffres remarquablement constants, sans la moindre trace d'augmentation en azote ammoniacal.

Cependant que par le dosage de l'uroformine, selon la méthode indiquée plus haut, nous retrouvons 20 minutes après 0 gr. 0683 d'azote ammoniacal, soit en uroformine 0 gr. 170 sur 0 gr. 175 que nous avons injecté par kilo de milieu liquide. 40 minutes après l'injection, il reste encore dans le sang 0 gr. 0513 d'N ammoniacal, soit 0 gr. 127 d'uroformine par litre. Cette quantité correspond, on le voit, à la quantité trouvée dans l'expérience d'étude de l'élimination de l'uroformine. 40 minutes après l'injection, il n'y a plus que les 5/7 environ de l'uroformine dans le sang.

Nous pouvons donc conclure de cette expérience, qu'il n'y a pas eu de transformation de l'uroformine dans le sang in vivo. Mais cette uroformine se trouve à peu près en totalité dans ce milieu 20 minutes après l'injection dans les veines ; elle commence à s'éliminer 40 minutes après.

L'urée n'a pas varié pendant ce temps.

La recherche du formol faite sur le sang non déféqué fut trouvée négative. Nous savons que cette méthode était trop imparfaite pour apprécier des transformations minimes, mais nous avons tenu à la faire pour confirmer encore nos résultats.

	Sang avant	Sang 20' après	Sang 40' après
N NH ³	0.0042	0.0018	0.0056
Uroformine	»	0.170	0.127
Formol	»	0	0

Troisième expérience. — Un chien pesant 10 kilos reçoit dans la veine fémorale 4 cc. 7 d'une solution d'uroformine à 0 gr. 25 par cm³, dans du sérum physiologique à 4 0/00.

Nous lui prenons du sang avant, cinq minutes, dix minutes et vingt minutes après l'injection. Comme précédemment, nous dosons l'ammoniaque libre et l'uroformine pour chacun des échantillons.

Les résultats obtenus sont venus pleinement confirmer ceux de l'expérience précédente. Nous n'avons trouvé aucune augmentation de l'ammoniaque dans le sang, donc il n'y a pas eu décomposition de l'uroformine.

Par contre, les dosages de l'uroformine faits sur le sang déféqué et acidifié, nous ont montré que cinq minutes après l'injection, l'uroformine ne paraît pas s'être encore répartie également dans les humeurs de l'organisme et dans le sang circulant. En effet, nous ne retrouvons que 0 gr. 091 d'uroformine par kilo, soit un peu plus de la moitié de la quantité injectée (0 gr. 175).

Dix minutes après, le taux atteint 0 gr. 130 0/00.

Enfin, vingt minutes après, la totalité est retrouvée dans le sang : 0 gr. 174 0/00.

La répartition égale de l'uroformine dans l'organisme semble donc demander un temps égal à vingt minutes.

	Sang avant	5' après	40' après	20' après
N NH ³	0.005	0.0052	0.0049	0.0053
Uroformine ..	»	0.091	0.130	0.174

QUATRIÈME PARTIE

Conclusions

Nous pouvons tirer de ce travail les conclusions suivantes :

1° *Méthodes de dosage.* — Nous avons établi et démontré l'insuffisance des méthodes de recherche et de dosage du formol libre dans le sang. Par contre, la méthode de dosage de l'ammoniaque dans le sang, FOLIN-GÉRARD, réunit les conditions de sensibilité et de précision nécessaires.

2° *Décomposition in vitro.* — Grâce à la méthode de dosage de l'uroformine de P. GÉRARD et S. MOISSONNIER, nous avons constaté, avec ces auteurs, que l'uroformine en contact avec du sang pendant 24 heures, à 37°, subit une légère décomposition, que nous n'avons pu mettre en évidence que par le dosage de NH_3 , la recherche du formol nous ayant donné des résultats négatifs.

3° *Décomposition in vivo.* — D'après nos expériences sur l'animal, nous pouvons déduire que l'uroformine ne subit pas de décomposition dans le sang, lorsqu'elle est introduite dans l'organisme par la voie intra-veineuse.

Des dosages systématiques de l'uroformine dans le sang nous ont cependant permis de vérifier constamment dans quelle proportion elle s'y trouvait.

Il est donc erroné de dire que l'uroformine agit par le formol qu'elle contient, puisqu'elle ne se dédouble pas en ses éléments. Son action antiseptique ne pourrait être due qu'à la valeur bactéricide de sa molécule non désagrégée.

4° *Répartition et élimination.* — Enfin, nos expériences sur l'animal nous ont encore permis d'étudier la répartition et l'élimination de l'uroformine dans le milieu liquide de l'organisme.

Nous avons constaté que le temps nécessaire à sa répartition totale est de vingt minutes après l'injection intra-veineuse.

D'autre part, l'élimination commence rapidement après l'injection d'uroformine ; elle est complètement terminée 24 heures après cette injection.

Vu et bon à imprimer.

Nancy, le 12 juin 1923,

Le Doyen de la Faculté de Pharmacie :

BRUNTZ.

Vu et permis d'imprimer.

Nancy, le 13 juin 1923,

Le Recteur de l'Académie :

Ch. ADAM.

Membre de l'Institut.

Table des Matières

INTRODUCTION	5
HISTORIQUE	7

PREMIÈRE PARTIE

Propriétés physiques et chimiques de l'uroformine	11
---	----

DEUXIÈME PARTIE

Décomposition de l'urotropine dans le sang	27
--	----

TROISIÈME PARTIE

Étude de la décomposition de l'uroformine dans l'organisme.	33
--	----

QUATRIÈME PARTIE

CONCLUSIONS	37
-------------------	----
